

文章编号:1003-2754(2020)11-0999-05

doi:10.19845/j.cnki.zfysjbjzz.2020.0506

miR-146a 基因多态性与帕金森病的相关性分析

赵 杰, 余巧燕, 王润青

摘 要: **目的** 分析微小 RNA-146a(miR-146a) 基因单核苷酸多态性(SNP)与帕金森病(PD)的相关性。**方法** 采用病例对照研究,选取 2015 年 10 月-2019 年 8 月本院连续就诊和住院治疗的原发性 PD 患者 446 例(PD 组),另匹配同期健康体检中心健康体检者 450 例为对照组,采用 DNA PCR 测序技术检测 miR-146a rs2910146、rs5709329 位点 SNP;采用 Logistic 回归分析影响 PD 发生的危险因素。**结果** PD 组与对照组 miR-146a rs2910146、rs5709329 位点基因型分布均符合哈代-温伯格(Hardy-Weinberg)平衡定律($P>0.05$)。PD 组与对照组性别、年龄、BMI、文化程度比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。与对照组比较,PD 组 rs2910146 位点 G 等位基因、GG 基因型频率显著降低($P<0.05$)。PD 组与对照组 rs5709329 位点等位基因频率、基因型分布比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。miR-146a rs2910146 位点 SNP 与 PD 患者认知功能障碍、年龄有关($P<0.05$),与性别、PD 亚型、首发肢体无关($P>0.05$)。携带 GG 基因型是 PD 发生的独立保护因素($P<0.05$)。**结论** miR-146a rs2910146 位点 SNP 与 PD 患者年龄、认知障碍有关,携带 GG 基因型可能降低 PD 发生风险。

关键词: 帕金森病; 微小 RNA-146a; 基因多态性

中图分类号:R742.5

文献标识码:A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



The relationship between miR-146a gene polymorphism and Parkinson's disease ZHAO Jie, YU Qiaoyan, WANG Runqing. (Department of Neurology, Zhengzhou Central Hospital, Zhengzhou 450007, China)

Abstract: **Objective** To analyze the relationship between single nucleotide polymorphism (SNP) of microRNA-146a (miR-146a) gene and Parkinson's disease (PD). **Methods** In a case-control study, 446 patients (PD group) with primary PD were selected from our hospital from October 2015 to August 2019, and 450 healthy people in the health examination center of the same period were selected as the control group, the SNP of rs2910146 and rs5709329 loci in miR-146a were detected by DNA PCR sequencing technology; and the risk factors of PD were analyzed by logistic regression. **Results** The genotypes of rs2910146 and rs5709329 in miR-146a in PD group and control group were consistent with Hardy-Weinberg equilibrium law ($P>0.05$). There was no significant difference in gender, age, BMI and education between PD group and control group ($P>0.05$). Compared with the control group, the G allele and GG genotype frequency of rs2910146 locus in PD group were significantly lower ($P<0.05$). There was no significant difference in allele frequency and genotype distribution of rs5709329 locus between PD group and control group ($P>0.05$). SNP at rs2910146 in miR-146a was related to cognitive dysfunction and age of PD patients ($P<0.05$), but not to gender, PD subtype and first-onset limb ($P>0.05$). Carrying GG genotype was an independent protective factor for PD ($P<0.05$). **Conclusion** SNP at rs2910146 locus in miR-146a is related to age and cognitive impairment in PD patients, and carrying GG genotype may reduce the risk of PD.

Key words: Parkinson's disease; MicroRNA-146a; Gene polymorphism

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是一种临床常见神经系统变性疾病,好发于老年人,多以脑黑质多巴胺(dopamine, DA)能神经元的变性死亡为主要病理改变,严重影响老年人生活质量并给社会带来严重经济负担^[1~3]。PD 具体病因尚不明确,目前认

收稿日期:2020-07-10;修订日期:2020-10-12

基金项目:郑州市 2009 年度科技发展计划(No. 16-54);郑州市首批领军人才科研基金(No. 096YJH33116)

作者单位:(郑州市中心医院神经内科,河南 郑州 450007)

通讯作者:赵 杰, E-mail: zjie197901@163.com

为其可能与环境因素、遗传因素、氧化应激、年龄老化及神经炎症等有关^[4]。微小 RNA (microRNA, miRNA) 在进化过程中高度保守, 可通过影响转录进程调节其靶基因表达。miR-146a 在炎症信号通路中起重要作用, 研究报道其在癫痫、阿尔兹海默症、PD、缺血性脑卒中等疾病中发挥重要作用^[5~8], 但关于 miR-146a 单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 与 PD 的关系尚鲜有研究。因此本研究拟探究 miR-146a rs2910146、rs5709329 位点与 PD 的相关性, 以期从基因层面探究其发病机制及临床意义。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 采用病例对照研究, 选取 2015 年 10 月 - 2019 年 8 月本院连续就诊和住院治疗的原发性 PD 患者 446 例 (PD 组), 其中男性 214 例, 女性 232 例, 平均年龄 (62.94 ± 8.65) 岁, 平均身体质量指数 (body mass index, BMI) 为 (24.17 ± 2.18) kg/m^2 , 平均受教育年限为 (9.36 ± 3.54) y, 首发肢体左侧者 211 例, 右侧者 235 例。按照中文版蒙特利尔认知评估量表 (Montreal Cognitive Assessment, MoCA) 将 PD 患者分为认知正常组 (≥ 26 分, $n = 237$) 和障碍组 (< 26 分, $n = 209$); 根据运动障碍分为姿势步态障碍型 ($n = 206$)、震颤型 ($n = 178$) 和中间型 ($n = 62$) 3 个亚型。另匹配同期健康体检中心健康体检者 450 例为对照组, 其中男性 243 例, 女性 207 例, 平均年龄 (62.17 ± 8.92) 岁, 平均 BMI 为 (23.96 ± 2.25) kg/m^2 , 平均受教育年限为 (9.48 ± 3.27) y。收集所有受试者临床资料, 本研究经过本院道德伦理委员会批准通过, 所有样品采集及资料调查均取得患者及其家属知情同意并签字确认, 符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》。

1.2 纳入与排除标准 PD 患者纳入标准: (1) 符合中华医学会神经学会 PD 及运动障碍学组制定的关于原发性 PD 诊断标准^[9]; (2) 年龄 30 岁 ~ 85 岁; (3) 均为汉族无血缘关系的本地常住居民。对照组纳入标准: (1) 无神经相关疾病及家族史者; (2) 年龄 30 岁 ~ 89 岁; (3) 汉族, 无血缘关系。

排除标准: (1) 合并脑血管疾病、阿尔兹海默症病史及其他精神疾病者; (2) 有服用抗精神病药物

史者; (3) 有 PD 家族病史者; (4) 临床资料不完整者。

1.3 样本采集及 miR-146a 基因型检测 采取所有受试者清晨空腹肘正中静脉血 4 ml 置于 -80°C 保存待检。采用全基因组 DNA 提取试剂盒 (货号: 158422, 英国 QIAGEN 公司) 提取所有受试者血液 DNA, 置于 -20°C 冰箱保存备用。miR-146a rs2910146 位点上游引物序列 ($5' \rightarrow 3'$): AACT-GAATTCCATGGGTTG, 下游引物序列 ($5' \rightarrow 3'$): CACGATGACAGAGATATCCC; rs5709329 位点上游引物序列 ($5' \rightarrow 3'$): CGGGGCTGCGGAGAGTCTAG, 下游引物序列 ($5' \rightarrow 3'$): GGACCCTCTTGCACACGT-GTC。反应体系 (25 L): $10 \times \text{PCR Buffer}$ 5.0 L, 上下游引物 (10 mol/L) 各 1 L, dNTP 4.0 L, DNA (10 mol/L) 10 L, Taq DNA 聚合酶 0.25 L, ddH_2O 3.75 L。反应条件: 95°C 5 min; 95°C 30 s, 64°C 1 min, 72°C 30 s, 35 个循环; 72°C 10 min。PCR 产物置于 4°C 保存。采用 DNA 纯化回收试剂盒 (货号: DP214-3, 北京天根生化科技有限公司) 纯化回收后送上海生工生物工程股份有限公司进行基因测序。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 25.0 软件进行统计学分析。计数资料以“百分率 (%)”表示, 采用 χ^2 检验; 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组比较采用 t 检验。样本代表性采用哈代-温伯格 (Hardy-Weinberg) 平衡定律检验。采用 Logistic 回归分析影响 PD 发生的危险因素。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PD 组与对照组基线资料比较 PD 组与对照组性别、年龄、BMI、文化程度比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 具有可比性 (见表 1)。

2.2 PD 组与对照组 miR-146a rs2910146、rs5709329 位点等位基因频率、基因型分布 PD 组与对照组 miR-146a rs2910146、rs5709329 位点基因型分布均符合哈代-温伯格 (Hardy-Weinberg) 平衡定律 ($\chi^2 = 4.617, 1.047, 0.835, 1.405, P > 0.05$), 具有群体代表性。与对照组比较, PD 组 rs2910146 位点 G 等位基因、GG 基因型频率显著降低 ($P <$

0.05)。PD 组与对照组 rs5709329 位点等位基因频率、基因型分布比较,差异无统计学意义($P > 0.05$) (见表 2)。

2.3 miR-146a rs2910146 位点 SNP 与 PD 患者认知功能障碍的关系 与正常组比较,认知功能障碍组 PD 患者 miR-146a rs2910146 位点 G 等位基因、GG 基因型频率显著降低($P < 0.05$) (见表 3)。

2.4 miR-146a rs2910146 位点 SNP 与 PD 临床

参数的关系 miR-146a rs2910146 位点 SNP 分布与 PD 患者年龄有关($P < 0.05$),与性别、PD 亚型、首发肢体无关($P > 0.05$) (见表 4)。

2.5 Logistic 回归分析影响 PD 发生的危险因素 采用 Logistic 回归分析校正年龄后,结果发现携带 GG 基因型是 PD 发生的独立保护因素($P < 0.05$) (见表 5)。

表 1 PD 组及对照组基线资料比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	性别(男/女)	年龄(岁)	BMI(kg/m ²)	受教育年限(y)
对照组	450	243/207	62.17 ± 8.92	23.96 ± 2.25	9.48 ± 3.27
PD 组	446	214/232	62.94 ± 8.65	24.17 ± 2.18	9.36 ± 3.54
t/χ^2 值	—	2.445	1.312	1.419	0.527
P 值	—	0.118	0.190	0.156	0.598

表 2 miR-146a rs2910146、rs5709329 位点等位基因频率、基因型分布[$n(\%)$]

组别	例数	rs2910146 位点				
		C	G	CC	CG	GG
对照组	450	543(60.33)	357(39.67)	169(37.56)	205(45.56)	76(16.89)
PD 组	446	593(66.48)	299(33.52)	187(41.93)	219(49.10)	40(8.97)
χ^2 值	—		7.293	0.178	1.131	12.468
P 值	—		0.007	0.181	0.288	<0.001

续表 2

组别	例数	rs5709329 位点				
		A	G	AA	AG	GG
对照组	450	686(76.22)	214(23.78)	266(59.11)	154(34.22)	30(6.67)
PD 组	446	702(78.70)	190(21.30)	273(61.21)	156(34.98)	17(3.81)
χ^2 值	—		1.574	0.412	0.056	3.673
P 值	—		0.210	0.521	0.812	0.055

表 3 认知功能障碍组与正常组 PD 患者 miR-146a rs2910146 位点等位基因频率、基因型分布比较[$n(\%)$]

组别	例数	rs2910146 位点				
		C	G	CC	CG	GG
正常组	237	299(63.08)	175(36.92)	90(37.97)	119(50.21)	28(11.81)
障碍组	209	294(70.33)	124(29.67)	97(46.41)	100(47.85)	12(5.74)
χ^2 值	—		5.246	3.247	0.248	5.017
P 值	—		0.022	0.072	0.618	0.025

表4 miR-146a rs2910146 位点 SNP 与 PD 临床参数的关系 [n(%)]

临床参数	例数	rs2910146 位点			χ^2 值	P 值
		CC (n = 187)	CG (n = 219)	GG (n = 40)		
发病年龄(岁)					8.169	0.017
≤50	90	35(38.89)	53(58.89)	2(2.22)		
>50	356	152(42.70)	166(46.63)	38(10.67)		
性别					0.135	0.935
男	214	88(41.12)	107(50.00)	19(8.88)		
女	232	99(42.67)	112(48.28)	21(9.05)		
PD 亚型					3.121	0.538
姿势步态障碍	206	85(41.26)	103(50.00)	18(8.74)		
震颤型	178	78(43.82)	87(48.88)	13(7.30)		
中间型	62	24(38.71)	29(46.77)	9(14.52)		
首发肢体					0.413	0.814
左侧	211	89(42.18)	105(49.76)	17(8.06)		
右侧	235	98(41.70)	114(48.51)	23(9.79)		

表5 Logistic 回归分析影响 PD 发生的危险因素

自变量		β	$\chi^2/wald$	SE	OR	95% CI	P 值
miR-146a	CC	-	-	-	1.000	-	-
rs2910146	CG	0.133	0.19	0.307	1.143	0.626 ~ 2.086	0.663
	GG	-0.268	5.721	0.304	0.765	0.614 ~ 0.953	0.017
年龄	≤50	-	-	-	1.000	-	-
	>50	0.214	0.271	0.412	1.239	0.553 ~ 2.778	0.603

3 讨论

PD 在 65 岁以上人群中发病率约 2%, 随着中国社会老龄化人口加剧, PD 发病率和致残率呈逐年上升趋势, 给患者家庭及社会带来沉重经济负担。目前普遍认为, PD 是由环境及基因共同作用引起的一种运动障碍性疾病^[10]。赵西耀等^[11] 研究报道, 自噬相关基因 7 rs14016 位点 TT 基因型及 T 等位基因可增加 PD 发病风险。王庆广等^[12] 研究报道, α -突触核蛋白中 rs356219、rs356165 位点多态性在 PD 发病中发挥着重要作用。近来 miRNA 与多种疾病发生发展关系备受关注, miR-146a 是免疫应答及炎症反应中重要调控因子, 可通过 Toll 样受体 (Toll like receptor, TLR) 信号通路介导, 靶向 TLR4、CD40 配体 (CD40 ligand, CD40L) 等发挥炎症调节作用, 促进 Th1 细胞分化等。SNP 是一种在人类基因组中密集分布的分子标记, 其多样性常用于与疾病关联分析。

miR-146a 多态性被证实与多种癌症、炎症性疾病等有关^[13-15]。其中 rs2910146 位点及 rs5709329 位点均是其功能 SNP 位点, 二者均可影响体内成熟 miR-146a 转录水平^[16,17]。程衍杨等^[18] 研究报道, miR-146a rs5709329 位点 SNP 与儿童癫痫发病有关, rs2910146 位点 SNP 与儿童癫痫易感性无关。尹晓刚等^[19] 研究报道, miR-146a rs5709329 位点 SNP 与老年癫痫易感性和发作频率无关。但关于 miR-146a 基因多态性与 PD 的相关性尚鲜有报道。本研究结果发现, 与对照组比较, PD 组 rs2910146 位点 G 等位基因、GG 基因型频率显著降低; PD 组与对照组 rs5709329 位点等位基因频率、基因型分布比较, 差异无统计学意义, 提示 PD 组 rs2910146 位点可能与 PD 发生有关, rs5709329 位点与 PD 发生无相关性, 与文献报道不完全一致, 可能与地理位置差异及病例选择异质性等有关。

PD 不仅会诱发运动障碍,还可导致患者痴呆、认知功能障碍等。本研究还发现,与正常组比较,认知功能障碍组 PD 患者 miR-146a rs2910146 位点 G 等位基因、GG 基因型频率显著降低,另 miR-146a rs2910146 位点 SNP 与 PD 患者年龄有关,与性别、PD 亚型、首发肢体无关,PD 患者根据发病年龄 50 岁为界分为早发型和晚发型,然而早发型 PD 较少见,我国 65 岁以上人群 PD 发病率可达 2%,可能与年龄老化、多巴胺能神经元变性死亡有关,提示 miR-146a rs2910146 位点与年龄及 PD 患者认知功能障碍有关。本研究进一步采用 Logistic 回归分析校正年龄后,结果发现携带 GG 基因型是 PD 发生的独立保护因素,提示 miR-146a rs2910146 位点可能与 PD 易感性有关,携带 GG 基因型可降低 PD 发生风险。

综上所述,miR-146a rs2910146 位点 SNP 与 PD 患者年龄、认知障碍有关,携带 GG 基因型可能降低 PD 发生风险。但由于本研究样本量少、病例选择范围局限,存在不足,不同种族及不同地域研究对象可能结果不完全一致;另 PD 发生机制复杂,可能涉及多种基因共同作用,有待后期加大样本量进一步深入探究。

[参考文献]

- [1] Lin MW, Lin CC, Chen YH, et al. Celastrol inhibits dopaminergic neuronal death of parkinson's disease through activating mitophagy [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2019, 9(1): 1-17.
- [2] Dossi G, Squarcina L, Rango M. In vivo mitochondrial function in idiopathic and genetic parkinson's disease [J]. *Metabolites*, 2019, 10(1): 1-11.
- [3] Uysal HA, Tiftikcioglu BI, Ocek L, et al. Serum levels of melatonin and sleep evaluation scales in the diagnosis of sleep disorders in patients with idiopathic Parkinson's Disease [J]. *Noro Psikiyatr Ars*, 2019, 56(4): 264-268.
- [4] 崔 璨, 刘卫国, 华 平, 等. BST1 基因多态性与中国人群帕金森病发病风险的相关性研究 [J]. *中国临床神经科学*, 2018, 26(1): 1-8.
- [5] 王国凤, 徐 宁, 杨 涛. 外周血单个核细胞 miR-146a 变化与糖尿病周围神经病变的相关性研究 [J]. *中国糖尿病杂志*, 2016, 24(6): 532-535.
- [6] 邱 峰, 吴 越, 曹 辉, 等. 帕金森病异常表达 microRNAs 的筛选及 microRNA-1976 作用机制的初步研究 [J]. *临床神经病学杂志*, 2017, 30(3): 171-174.
- [7] 朱浩刚, 张红金, 包黎刚, 等. MicroRNA 多态性位点与缺血性脑卒中发病风险的相关性分析 [J]. *中华医学遗传学杂志*, 2017, 34(2): 261-265.
- [8] Mai H, Fan W, Wang Y, et al. Intranasal administration of mir-146a agomir rescued the pathological process and cognitive impairment in an ad mouse model [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2019, 18(1): 681-695.
- [9] 中华医学会神经病学分会帕金森病及运动障碍学组, 中国医师协会神经内科医师分会帕金森病及运动障碍专业. 中国帕金森病的诊断标准 (2016 版) [J]. *中华神经科杂志*, 2016, 49(4): 268-271.
- [10] Delamarre A, Meissner WG. Epidemiology, environmental risk factors and genetics of Parkinson's disease [J]. *Presse Med*, 2017, 46(1): 175-181.
- [11] 赵西耀, 陈煜森, 陈霄仪, 等. 自噬相关基因 7rs14016 位点多态性与帕金森病的相关性分析 [J]. *中华老年医学杂志*, 2017, 36(12): 1293-1297.
- [12] 王庆广, 韩伯军, 洪珊珊, 等. α -突触核蛋白基因 rs356219、rs356165 位点多态性与帕金森病认知功能障碍的关系 [J]. *中华行为医学与脑科学杂志*, 2018, 27(9): 804-807.
- [13] 张立洪, 张传永, 戴新征, 等. miR-146a 单核苷酸多态性与肝细胞癌遗传易感性的 meta 分析 [J]. *中华肝脏病杂志*, 2017, 25(10): 749-754.
- [14] Gao C, Shi Q, Wei J, et al. The associations of two SNPs in miRNA-146a and one SNP in ZBTB38-RASA2 with the disease susceptibility and the clinical features of the Chinese patients of sCJD and FFI [J]. *Prion*, 2018, 12(1): 34-41.
- [15] Meshkat M, Tanha HM, Naeini MM, et al. Functional SNP in stem of mir-146a affects Her2 status and breast cancer survival [J]. *Cancer Biomark*, 2016, 17(2): 213-222.
- [16] 胡秋侠, 李 博, 余若男, 等. miR-146a rs2910164 位点多态性与类风湿关节炎病情活动的相关性 [J]. *中华医学遗传学杂志*, 2019, 36(5): 505-507.
- [17] 李 友, 朱 菁, 马国达, 等. miR-146a 基因多态性与腔隙性脑梗死的关系 [J]. *山东医药*, 2014, 54(16): 1-3.
- [18] 程衍杨, 何 惠, 刘奥杰, 等. miRNA-146a 基因多态性与儿童癫痫的相关性研究 [J]. *广东医学*, 2016, 37(18): 2787-2789.
- [19] 尹晓刚, 张辉芳, 李富强. miR-146a 基因单核苷酸多态性位点多态性与老年癫痫易感性的相关性及其作用机制 [J]. *中国老年学杂志*, 2018, 38(6): 1416-1418.